

Requested Patent: JP3295465A

Title:

PRESERVING LIQUID PREPARATION FOR MEDICAL EXAMINATION OF LIQUID SPECIMEN AND PREPARATION THEREOF ;

Abstracted Patent: JP3295465 ;

Publication Date: 1991-12-26 ;

Inventor(s): FUJIKAWA SHIGEKI; others: 02 ;

Applicant(s): NIPPON KEMIKOTO KASEI KK ;

Application Number: JP19900099023 19900413 ;

Priority Number(s): ;

IPC Classification: G01N33/48; A61B10/00 ;

Equivalents: JP1921879C, JP6052264B ;

ABSTRACT:

PURPOSE:To prevent cytopathogenicity and to prolong the period of preservation by using a liquid specimen consisting of an aq. alcohol soln. essentially consisting of ethanol and contg. specific ratios of specific components.

CONSTITUTION:The constitution consisting of the aq. alcohol soln. essentially consisting of the ethanol and contg. 1 to 100g/l straight chain aliphatic diol of 4 or 5C and 1 to 50g/l polyethylene glycol is adopted. This preparation is added and mixed to and with the liquid specimen at 5 to 50wt.% ratio. The cytopathogenicity in the liquid specimen is then prevented and the period of preserving the specimen is prolonged. The specimen preserving liquid having high reliability is thus obtd.

## ⑫ 公開特許公報(A) 平3-295465

⑬ Int. Cl.<sup>3</sup>G 01 N 33/48  
A 61 B 10/00

識別記号

P  
Y  
1 0 3 Z

庁内整理番号

7055-2J  
7831-4C  
7831-4C

⑭ 公開 平成3年(1991)12月26日

審査請求 有 請求項の数 3 (全4頁)

⑮ 発明の名称 液状検体の医学検査用保存液調製剤と調製方法

⑯ 特 願 平2-99023

⑰ 出 願 平2(1990)4月13日

⑱ 発 明 者 藤 川 茂 樹 大阪府堺市新樟尾台3丁3番13-209

⑲ 発 明 者 佐 藤 博 美 大阪府堺市六条通2-1

⑲ 発 明 者 大 岩 孝 司 千葉県千葉市こてはし台2-23-7

⑳ 出 願 人 日本ケミコート化成株 京都府乙訓郡大山崎町大山崎小字鏡田20-33  
式会社

㉑ 代 理 人 弁理士 藤 川 忠 司

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

液状検体の医学検査用保存液調製剤と調製方法

## 2. 特許請求の範囲

(1). エタノールを主成分とし、炭素数4または5の直鎖脂肪族ジオール1~100g/lと、ポリエチレングリコール1~50g/lとを含有するアルコール水溶液からなる液状検体の医学検査用保存液調製剤。

(2). 100g/l以下のイソプロピルアルコールが含有された請求項(1)記載の液状検体の医学検査用保存液調製剤。

(3). 請求項(1)または(2)に記載の調製剤を液状検体に対して4~50重量%の割合で添加混合することを特徴とする液状検体の医学検査用保存液の調製方法。

## 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、尿や胸水等の液状検体に添加混合

して細胞診その他の各種医学検査に供する保存液を調製するための調製剤と、これを用いた該保存液の調製方法に関する。

(従来の技術)

尿や胸水等の液状検体の細胞診においては、該検体中に含まれる細胞や血液成分を固定化して検査に供し易い形態とする必要があり、例えば従来の尿細胞診では一般的に直接塗抹法もしくはサコマノ液法によって検査用の固定化標本を作成している。

そして上記の直接塗抹法は、採取した新鮮尿を遠心分離して得られる残渣を塗抹するか、もしくはオートスノアーにて遠心塗抹したのち、これを95%エタノールにて固定して検査用標本とするものである。また、サコマノ液法は、新鮮尿を遠心分離して得られる沈渣に2倍(容量)以上のサコマノ液を添加し、よく混和したのちに再度の遠心分離を行い、その沈渣を塗抹して乾燥後に95%エタノールで再固定して検査用標本とするものである。

(発明が解決しようとする課題)

しかしながら、上記従来の直接塗抹法では95%エタノールによる固定時に細胞の部分的な剥離が避けられず、またサコマノ液法では赤血球の破壊および胞変性を防止できないことから、いずれも診断結果に全幅の信頼を置けないという問題があった。また、尿細胞診の診断はあくまでも検体が新鮮尿であることを前提としたものであるが実際には採尿から検査までかなりの時間を要するのが普通であり、上記従来の方法では経時的な細胞変性も避けられないため、異常が発見されても悪性か否かの判定は再検の結果によらざるを得なかった。

更に、上述のような直接塗抹法やサコマノ液法によって検査用標本を作成すると、一般検査や沈澱検査等の他の検査を同一尿に行えず、これら他の検査用として再度の採尿が必要となり、そのための手間や時間的ロスが大きいという難点もあった。

本発明は、上述の事情に照らし、液状検体中の

ールを主成分として他に特定のジオールおよびポリエチレングリコールを含有するアルコール水溶液からなり、尿や胸腹水等の液状検体に添加することにより、該検体中の細胞や血液成分を固定化して検査用としての安定な保存液を調製するものである。

かくして、得られる保存液は上記調製剤特有の優れた固定化作用と細菌抑制作用とによって卓越した保存安定性を示し、通常において保存細胞は3ヶ月以上安定すると共に6ヶ月以上わたる細菌抑制が可能となる。また尿中血液成分の保存性に非常に優れ、特に赤血球では6ヶ月以上の保存を行えることから、例えばばうこう座に関して重要な所見をもたらすことができる。

更に、この調製剤によれば、添加した時点で固定化がなされるため、液状検体の採取直後に細胞保存することが可能となり、もって検体採取から固定までの時間経過に伴う細胞変性を最小限に抑えることができる。

調製剤の主成分をなすエタノールは、従来の直

接塗抹性を防止すると共にその保存期間を従来と比較して飛躍的に延長することを可能にする医学検査用保存液調製剤とこれによる調製方法を提供することを目的としている。

(課題を解決するための手段)

本発明に係る医学検査用保存液調製剤は、上記目的を達成するために、エタノールを主成分とし、炭素数4または5の直鎖脂肪族ジオール1~100g/ℓと、ポリエチレングリコール1~50g/ℓとを含有するアルコール水溶液からなる構成を形成するものである。

また本発明では上記調製剤中に100g/ℓ以下のイソプロピルアルコールを含有する構成を好適態様としている。

一方、本発明に係る医学検査用細胞保存液の調製方法は、上記の調製剤を液状検体に対して5~50重量%の割合で添加混合することを特徴とするものである。

(発明の細部構成と作用)

本発明の保存液調製剤は、前記のようにエタノ

ールを主成分として他に特定のジオールおよびポリエチレングリコールを含有するアルコール水溶液からなり、尿や胸腹水等の液状検体に添加することにより、該検体中の細胞や血液成分を固定化して検査用としての安定な保存液を調製するものである。

このエタノール濃度は、上記作用を充分に発揮させる上で50%以上とする必要があるが、高濃度すぎると液状検体への添加初期において細胞が高濃度状態のエタノールに接して悪影響を受けることから、50~80%程度が望ましい。

調製剤中に含有させるジオール成分は主として核酸蛋白を凝固させる作用を示すものであり、この凝固作用によって保存液は低アルコール濃度下でも細胞保存が良好となる。したがって、例えば酵素反応等の低アルコール濃度を必要とする検査が可能になるという利点がある。

このようなジオール成分は、上記作用に優れると共に、この作用を充分に発揮する上で細胞膜に対する透過性が大きく、且つ取扱い上で臭気の少

ないものである必要があることから、前記の炭素数が4または5の直鎖脂肪族ジオールに限られる。その具体例としては、1・4-ブタンジオール、1・2-ブタンジオール、1・3-ブタンジオール、2・3-ブタンジオール、1・5-ペンタンジオール、2・4-ペンタンジオール等が挙げられ、これらは単独使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。

上記ジオール成分の調製剤中の配合量は、1～100g/ℓの範囲であり、過少では上記作用が充分に発揮されず、逆に過多では細胞質内の遊離蛋白の凝固を惹起して細胞質の形状の変化ならびに細胞質の染色性の变化をきたすという問題がある。

一方、調製剤中に配合させるポリエチレングリコールは、専ら液状検体中の細胞や血漿成分の固定化作用を担うものであり、通常では平均分子量1000～4000程度の低分子量のものが好適に使用される。そして、このポリエチレングリコールの調製剤中の配合量は、1～50g/ℓの範囲であり、過少では上記作用が充分に発揮されず、逆に過多

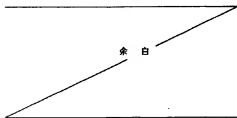
になると細胞の収縮を招くと共に細胞膜の破壊を生じる恐れがある。

なお、調製剤中には上記のジオール成分およびポリエチレングリコールの他に必要に応じて種々の成分を配合してもよい。例えば、液体検体の種類によってアルコールの浸透性をより大きくする必要がある場合、イソプロピルアルコールを100g/ℓ以下の濃度範囲で配合することが推奨される。

上記構成の調製剤にて医学検査用保存液を調製するには、該調製剤を尿や胸水等の液状検体に對して4～50%の割合で添加混合すればよい。そして、この添加量が4%未満では保存液の凝固抑制作用および染色性が共に不充分になり、また50%より多くなると通常のスライド塗抹法において使用されるスライドから細胞が離脱し易くなり、そのためにスライドに細胞を付着させる支持剤が必要になり、また薬剤コストが高くなることとなる。

かくして調製される医学検査用保存液は、ジョ

ール成分の電位触媒作用によって細胞核内の蛋白が荷電凝集して固定される一方で、蛋白のアミノ酸荷電電位の違いから、ジオール成分の酸化還元電位によって電位の低い他の遊離蛋白が還元されて主鎖を存在させない形となっており、またババニコロ染色やSM（ステインベルグマイヤー）染色が可能であることから、細胞診検査および沈渣検査に適用できると共に、例えば尿蛋白の定性、定量、尿糖の定性、ウロビリノーゲン定性、尿潜血の定性、尿中一般検査や尿生化学検査にも供することができ、更にEIA法（免疫酵素抗体法）による尿の腫瘍マーカーの測定も可能である。しかも、これら各種検査は全て同じ保存液つまり同一検体を用いて実施することができる。



#### (実施例)

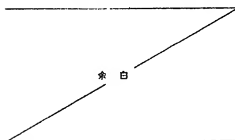
第1表 保存液調製剤

種 類	組 成
A1	10%エタノール水溶液に20g/ℓのブタンジオール(1・3-ブタンジオールと1・4-ブタンジオールの混合物)と20g/ℓのポリエチレングリコール(平均分子量約1540を配合したもの)
A2	調製剤A1のブタンジオールに代えて30g/ℓの1・5-ペンタンジオールを配合したもの
A3	調製剤A1の組成に更に100g/ℓのイソプロピルアルコールを追加配合したもの
B	調製剤A1のエタノール水溶液に代えて水を使用したもの
C	調製剤A1の組成よりブタンジオールを除いたもの
D	調製剤A1の組成よりポリエチレングリコールを除いたもの
E	調製剤A1のブタンジオールに代えて20g/ℓの1・3-プロパンジオールを配合したもの

上記第1表で示す組成の保存液調製剤(A1~A3…実施例、B~E…比較例)をそれぞれ採取直後の尿45ccに添加混合して保存液を作成し、これら保存液を常温にて放置して所定日数経過毎に細胞変性と細菌汚染の状況を顕微鏡にて調べて下記の4段階で評価した。その結果を、健康者の尿に関して第2表、糖尿病患者の尿に関して第3表に示す。

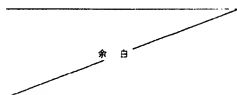
評 価 細胞変性・細菌汚染

- ・・・全くなし
- ・・・僅かにあり
- △・・・かなりあるが検査は可
- ×・・・著しく検査用として不適



(発明特有の効果)

本発明の保存液調製剤および調製方法によれば、尿や胸腹水等の液状検体に該調製剤を単に添加混合するだけで細胞や紗検査を始めとして沈渣検査、一般検査、尿生化学検査等の各種医学検査に供し得る信頼性の高い検体保存液を提供でき、しかも該保存液が卓越した保存安定性を示して長期にわたり細胞変性および細菌汚染を生じにくいものとなり、また検体の細胞や血液成分を検体採取直後に固定できることから、従来の固定化標本作成手段の如き固定化までの時間経過に伴う変性を回避できると共に、同一検体にて上記各種の検査が実施可能となるため、従来に比較して検体採取の手間および時間が大幅に低減されるという利点がある。



第 2 表

(H)・・・細胞変性、(O)・・・細菌汚染

検 体 種 類	調 製 剤	添 加 量 (wt%)	放 置 日 数									
			0.5		3		7		30		180	
			H	O	H	O	H	O	H	O	H	O
健 康 者 尿	A1	5	●	●	●	●	●	●	●	○	○	○
		10	●	●	○	●	○	●	○	●	○	○
	A2	5	●	○	●	○	○	○	△	○	×	×
	B	5	●	●	○	●	△	○	△	△	×	×
	C	5	●	●	△	○	×	△	×	×	×	×
	D	5	●	●	△	●	×	○	×	△	×	×
	E	5	○	○	△	○	△	△	×	×	×	×
	A1	5	●	●	●	●	●	○	○	○	×	×
	A3	5	●	●	○	●	●	○	○	○	×	△
	B	5	○	○	△	△	△	×	×	×	×	×
糖 尿 患 者 尿	C	5	●	●	△	△	△	×	×	×	×	×
	D	5	○	○	△	○	×	×	×	×	×	×
	E	5	○	○	○	○	△	△	△	×	×	×